

# TYPAGE DES PROTEINURIES : COMMENT, POURQUOI ET POUR QUI ?

## *PROTEINURIA TYPING: HOW, WHY AND FOR WHOM?*

Nicolas Pallet<sup>1</sup> Jean-Philippe Bastard<sup>2</sup> Sophie Claeysens<sup>3</sup> Soraya Fellahi<sup>2</sup> Pierre Delanaye<sup>4</sup> Laurence Piéroni<sup>5</sup> Elizabeth Causse<sup>6</sup>, Pour le groupe de travail SFBC, SFNDT, SNP « Actualités sur les protéinuries »

<sup>1</sup> Service de biochimie, Hôpital européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France

<sup>2</sup> UF Biomarqueurs inflammatoires et métaboliques, Service de biochimie et hormonologie, Hôpital Tenon, AP-HP, Paris, France

<sup>3</sup> Laboratoire de biochimie générale, Hôpital Charles Nicolle, CHU de Rouen, France

<sup>4</sup> Service de néphrologie, dialyse, transplantation, CHU du Sart Tilman, Liège, Belgique

<sup>5</sup> Département de biochimie-hormonologie, Hôpital Lapeyronie, CHU de Montpellier, France

<sup>6</sup> Laboratoire de biochimie, Institut fédératif de biologie, CHU Purpan, Toulouse, France

**RÉSUMÉ.** Le typage des protéinuries constitue un des examens complémentaires mis en œuvre au cours de l'exploration d'une protéinurie. Elle vise à séparer et à identifier les différentes protéines, ou fractions de protéines, qui composent la protéinurie. La nature et l'importance relative des protéines présentes reflètent la localisation de l'atteinte rénale et contribuent à en déterminer l'étiologie. Le typage d'une protéinurie permet également la détection d'un composant monoclonal urinaire ainsi que sa quantification. Enfin, elle permet de mettre en évidence l'existence d'une protéinurie de surcharge pouvant survenir en l'absence de lésion rénale. De nombreuses méthodes permettent le typage des protéinuries, et celles-ci ont bénéficié ces dernières années d'avancées technologiques. L'objet de cette revue est de faire la synthèse des méthodes de typage actuellement utilisées, de leurs avantages et de leurs limites, et de l'aide que ces analyses peuvent apporter à la prise en charge des malades.

**MOTS CLÉS:** protéinurie, électrophorèse urinaire, profil protéique urinaire, maladie rénale, gammopathie monoclonale

**ABSTRACT.** The typing of proteinuria is one of the complementary examinations carried out during the exploration of proteinuria. It aims to separate and identify the different proteins, or fractions of proteins, that make up proteinuria. The nature and relative importance of the proteins present reflect the location of the renal involvement and help to determine the etiology. The typing of a proteinuria also allows the detection of a monoclonal component in urine and its quantification. Finally, it allows highlighting the existence of a proteinuria of overload that can occur in the absence of kidney damage. Many methods allow the typing of proteinuria, and these have benefited in recent years from technological advances. The purpose of this review is to summarize typing methods currently used, their benefits and limitations, and the help that these diagnostic tools can provide to the management of patients.

**KEY WORDS:** proteinuria, urinary electrophoresis, urinary protein profiling, kidney disease, monoclonal gammopathy

*Membres du groupe de travail mixte Société française de biologie clinique, Société francophone de néphrologie, dialyse et transplantation, Société de néphrologie pédiatrique : Jean-Philippe Bastard, Marie-Christine Beauvieux, Isabelle Benz-de Bretagne, Edith Bigot-Corbel, Anne Boutten, Marie-Christine Cartier, Eli-zabeth Caussé, Etienne Cavalier, Sophie Claeysens, Jean-Paul Cristol, Pierre Delanaye, Vincent Delatour, Soraya Fellahi, Marc Fila, Christophe Mariat, Nicolas Pallet, Franck Perrier, Laurence Piéroni, Elisabeth Plou-vier, Christelle Roger, Sophie Séronie-Vivien*

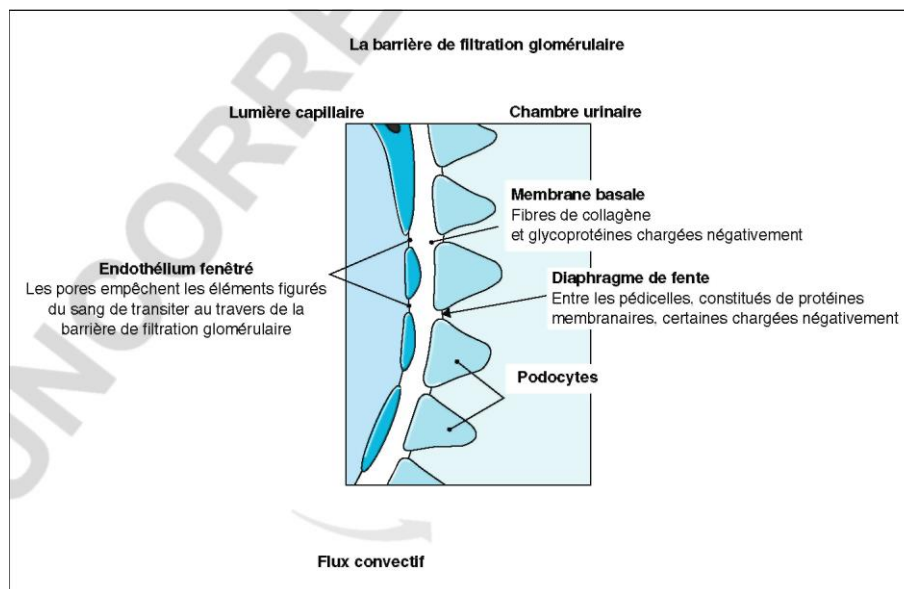
Le typage des protéinuries est une analyse qualitative visant à séparer et à identifier les différentes protéines, ou fractions de protéines, qui composent la protéinurie. La nature et l'importance relative des protéines présentes reflètent la localisation de l'atteinte rénale et contribuent à en déterminer l'étiologie. Cette analyse fait partie des examens complémentaires mis en œuvre lors de la découverte d'une protéinurie persistante et confirmée par une analyse quantitative. Elle permet également de classer comme protéinurie pathologique les urines de concentration normale ou sub-normale mais qui comportent une (des) protéine(s) normalement absente(s) dans l'urine et caractéristique(s) d'une pathologie. Elle permet aussi la détection d'un composant monoclonal ainsi que sa quantification, l'immunofixation restant cependant la seule technique permettant d'affirmer le caractère monoclonal de ce composant. Enfin, elle permet de mettre en évidence l'existence d'une protéinurie de surcharge et d'une protéinurie associée à une pyurie ou une hématurie, ces deux types de protéinuries pouvant survenir en l'absence de lésion rénale. Les méthodes d'analyse qualitative pour le typage des protéinuries ont bénéficié ces dernières années d'avancées technologiques. Si ces analyses sont accessibles à un grand nombre de laboratoires, leur prescription reste cependant limitée aux médecins spécialistes. L'objet de cette revue est, sur la base de la physiopathologie des protéinuries, de faire la synthèse des techniques actuellement utilisées : principes techniques, interprétation des résultats, avantages et inconvénients.

## Physiopathologie des protéinuries

### ***LA BARRIERE DE FILTRATION GLOMERULAIRE ET LA REABSORPTION TUBULAIRE DES PROTEINES (FIGURE 1)***

Pour une protidémie physiologique de 70 g/L, et une fraction du débit sanguin de filtration glomérulaire de 180 litres par jour (représentant 20 % du débit sanguin rénal), près de 13 kg de protéines entrent en contact avec la barrière de filtration glomérulaire tous les jours. Or, la protéinurie physiologique est inférieure à environ 0,2 g/L (soit 0,3 g/24 heures, ou 0,3 g/g créatinine urinaire). Le faible débit de protéinurie physiologique, contrastant avec le débit considérable des protéines sériques transitant par les glomérules est la conséquence de la perméabilité très réduite de la barrière de filtration glomérulaire aux protéines de haut poids moléculaire, et des propriétés d'endocytose de l'épithélium tubulaire proximal qui réabsorbe et dégrade ou recycle la quasi-totalité des protéines filtrées apparaissant dans la chambre urinaire des glomérules.

**Figure 1.** La barrière de filtration glomérulaire. Elle est constituée de trois éléments : A : un endothélium fenêtré au versant capillaire du glomérule. La fenestration des cellules endothéliales constitue le premier filtre, de taille de 70 à 100 nm de diamètre, générant une sélectivité contre les éléments figurés du sang qui sont retenus dans le capillaire glomérulaire. B : la membrane basale glomérulaire constituée d'un maillage serré de collagène de type IV, de laminine et de protéoglycanes polyanioniques, comme l'agrane, qui comporte des chaînes glycosylées chargées négativement. C : les podocytes reposent sur la face externe de la membrane basale glomérulaire par des prolongements appelés pédicelles. Ces pédicelles sont en contact étroits les uns avec les autres, formant des zones de contact intercellulaire appelées « diaphragme de fente ». Ces diaphragmes de fente sont constitués de protéines membranaires spécifiques des podocytes qui restreignent le passage des protéines de taille supérieure à 70 kDa (l'albumine faisant 66 kDa). En outre, des protéines membranaires, comme la podocalyxine, sont riches en acides sialiques chargés négativement, ajoutant des contraintes de charge aux contraintes de taille.



La différence de pression hydrostatique entre la lumière du capillaire glomérulaire et la chambre urinaire (dans la capsule de Bowman) génère un flux convectif du plasma à l'origine du débit de filtration glomérulaire. Ce flux convectif se fait au travers de la barrière de filtration glomérulaire qui oppose des contraintes de taille et de charge à la filtration des molécules plasmatiques. Elle est constituée de trois éléments :

- un endothélium fenêtré au versant capillaire du glomérule à travers duquel le plasma peut directement venir au contact de la membrane basale glomérulaire. La fenestration des cellules endothéliales constitue le premier filtre, de taille de 70 à 100 nm de diamètre, générant une sélectivité contre les éléments figurés du sang qui sont retenus dans le capillaire glomérulaire ;
- la membrane basale glomérulaire, sur laquelle les cellules endothéliales reposent au versant capillaire, est issue de l'assemblage de molécules sécrétées par les cellules endothéliales et les podocytes situés sur la face urinaire, et qui forment un maillage serré. Elle est constituée notamment de collagène de type IV, de laminine et de protéoglycanes polyanioniques, comme l'agrane, qui comporte des chaînes glycosylées chargées négativement. Les contraintes physico-chimiques exercées par cette membrane basale (contraintes de charge et de taille) en font le principal filtre contre le passage des protéines plasmatiques ;
- les podocytes reposent sur la face externe de la membrane basale glomérulaire par des prolongements appelés pédicelles.

Ces pédicelles sont en contact étroits les uns avec les autres, formant des interdigitations, et

des zones de contact intercellulaire appelées « diaphragme de fente ». Ces diaphragmes de fente sont constitués de protéines mem-branaires spécifiques des podocytes comme la néphrine, ou la podocine, qui restreignent le passage des protéines de taille supérieure à 70 kDa (l'albumine faisant 66 kDa), et dont les mutations sont responsables de syndromes néphro-tiques congénitaux. En outre, des protéines membranaires, comme la podocalyxine, sont riches en acides sialiques chargés négativement, ajoutant des contraintes de charge aux contraintes de taille. Les podocytes ont des capacités d'endocytose de quantités importantes de protéines sériques telles que l'albumine et les IgG qui traversent la membrane basale glomérulaire suivant la direction de l'écoulement du fluide, évitant ainsi qu'elles s'accumulent derrière les diaphragmes de fente podocytaire, et les obstruent [1]. L'épithélium tabulaire proximal réabsorbe la quasi-totalité des protéines ayant traversé le filtre glomérulaire qui sont donc présentes dans l'ultrafiltrat. Le tubule contourné proximal est en contact immédiat avec l'ultrafiltrat sortant au pôle tabulaire du glomérule et est doté de grandes capacités de réabsorption des solutés, d'endocytose et de transcytose des protéines filtrées. Le pôle apical des cellules tabulaires proximales est en effet doté d'une bordure en brosse démultipliant la surface de contact avec l'ultrafiltrat, des récepteurs d'endocytose (mégaline et cubuline) sont fortement exprimés et l'appareil lysosomal est très développé. Le pool mitochondrial au pôle basai est important, ce qui permet de produire l'énergie nécessaire à ces activités de réabsorption et d'endocytose. La mégaline et cubuline servent de récepteurs à plus de 80 protéines identifiées (enzymes, hormones, lipoprotéines, facteurs de croissance, transporteurs...) et permettent leur endocytose [2].

## LES DIFFERENTS TYPES DE PROTEINURIES (FIGURE 2)

### PROTEINURIES PHYSIOLOGIQUES ET PROTEINURIES TRANSITOIRES

La protéinurie physiologique est constituée pour moitié environ de protéines produites et sécrétées par le tubule et l'urothélium : protéine de Tamm Horsfall (Uomoduline), urokinase, IgA sécrétoire, et pour moitié de protéines de faible poids moléculaire (bêta-2-microglobuline, lysozyme, chaînes légères libres d'immunoglobulines). On peut également trouver de l'albumine dans les urines, mais toujours en quantité inférieure à 15-30 mg/24 heures en situation physiologique.

Il existe des situations bien identifiées où la protéinurie est transitoire, sans lien avec une anomalie structurelle de la barrière de filtration glomérulaire :

- protéinurie orthostatique, en période pubertaire, qui disparaît avant l'âge de 20 ans. Elle est caractérisée par la disparition de la protéinurie en clinostatisme (urines recueillies après 2 heures de repos en décubitus dorsal). La protéinurie orthostatique n'est pas pathologique ;
- protéinurie d'effort, observée au décours d'un exercice physique intense et prolongé ;
- protéinurie accompagnant une fièvre élevée, une poussée hypertensive, une insuffisance ventriculaire droite, ou une polyglobulie.

Il faut noter qu'une hématurie macroscopique peut-être à l'origine d'une protéinurie liée à la présence d'hémoglobine issue de la lyse des hématies dans les urines et peut être de l'ordre de 1 à 2 grammes par jour. L'hématurie microscopique n'interfère pas avec la protéinurie.

## PROTEINURIES PERMANENTES

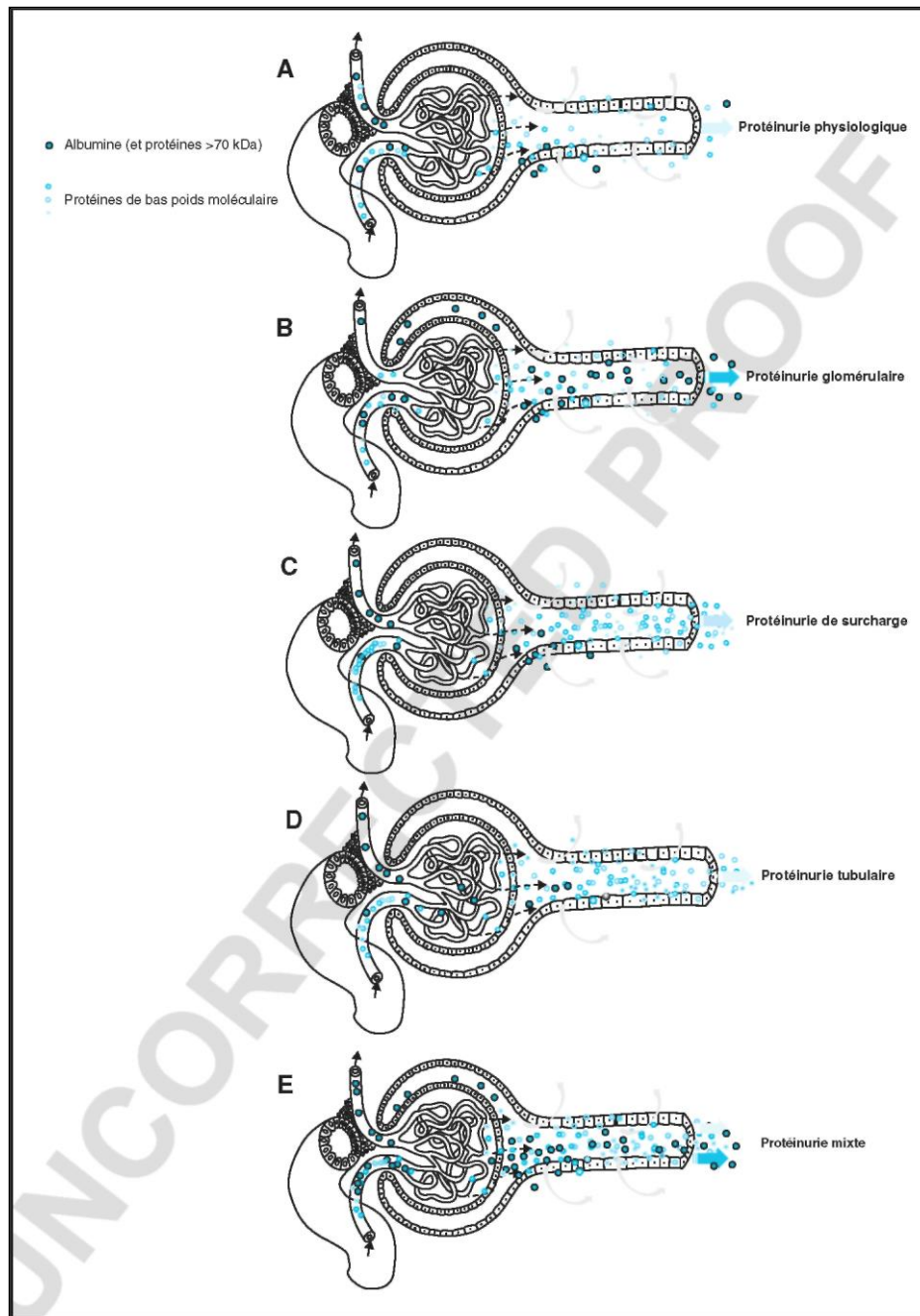
Les sociétés savantes, comme la Société francophone de néphrologie-dialyse et transplantation, ou la Haute autorité de santé, définissent une protéinurie clinique (donc pathologique et nécessitant une prise en charge) de la manière suivante : un ratio albuminurie/créatininurie

- > 30 mg/mmol ; un ratio protéinurie/créatininurie
- > 50 mg/mmol ; ou une protéinurie des 24 heures
- > 0,5 g.

Toute protéinurie permanente doit être explorée afin d'identifier une maladie rénale et sa cause, potentiellement curable, car elle témoigne d'une atteinte parenchymateuse rénale (considérant bien sûr qu'il ne s'agit pas d'une protéinurie de surcharge). En effet, l'existence d'une protéinurie, même avec fonction rénale normale, fait porter le diagnostic de maladie rénale chronique (MRC), et fait orienter le patient vers un parcours de soins spécifique. Un avis néphrologique peut être requis afin de poser l'indication de la réalisation d'une ponction biopsie rénale. On distingue les protéinuries glomérulaires, les protéinuries tubulaires, les protéinuries mixtes et les protéinuries de surcharge. En général, une protéinurie > 1,5 g/L correspond à une protéinurie glomérulaire (hors les cas particuliers des protéines de surcharge comme les chaînes légères libres), alors qu'une protéinurie < 1,5 g/L peut être d'origine tubulaire ou glomérulaire.

**Figure 2.** Les différents types de protéinurie. **A** : protéinurie physiologique (< 0,2-0,3 g/24h) : constituée de protéines de Tamm Horsfall, d'urokinase, d'IgA sécrétoires, et pour moitié de protéines de faible poids moléculaire. On peut également trouver des traces d'albumine. **B** : protéinurie glomérulaire : constituée pour plus de 80 % d'albumine (66 kDa), avec aussi de la transferrine (80 kDa), mais sans, ou avec une proportion physiologique d'IgG (150 kDa) lorsqu'elle est sélective. Elle est dite « non-sélective » lorsqu'elle est constituée de diverses protéines de plus haut poids moléculaire avec une proportion d'albumine inférieure à 80 %. Elle signe l'existence d'une néphropathie glomérulaire. **C** : protéinurie de surcharge : elle résulte d'une augmentation de synthèse de protéines de faible poids moléculaire : chaînes légères libres kappa ou lambda au cours des dysglobulinémies, lysozyme (leucémie myélomonocytaire), ou de la libération de protéines intracellulaires comme la myoglobine dans la rhabdomyolyse, ou l'hémoglobine dans l'hémolyse intravasculaire, qui dépassent les capacités de réabsorption tubulaire proximale. **D** : protéinurie tubulaire : elle résulte d'un trouble de réabsorption tubulaire proximal. Les protéines de bas poids moléculaire sont augmentées :  $\beta$ 2-microglobuline (12 kDa), lysozyme (15 kDa), retinol binding protein (RBP) (21 kDa),  $\alpha$ 1-microglobuline (33 kDa). **E** : protéinuries mixtes, associant protéines de haut poids moléculaire et de bas poids moléculaire, témoignant d'une maladie rénale avancée avec atteinte glomérulaire secondaire (hyalinose segmentaire et focale liée à la réduction néphronique), fibrose interstitielle et atrophie tubulaire.





**Protéinurie glomérulaire sélective** : constituée pour plus de 80 % d'albumine (66 kDa), avec aussi de la transferrine (80 kDa), mais sans, ou avec une proportion physiologique d'IgG (150 kDa). Elle est évocatrice d'une néphropathie glomérulaire sans lésion glomérulaire visible en microscopie optique (néphropathie à lésions glomérulaires minimales, connue sous le nom de néphrose lipoïdique chez l'enfant). On observe en microscopie électronique un effacement des pédicelles des podocytes.

**Protéinurie glomérulaire non sélective** : constituée de protéines de plus haut poids moléculaire que l'albumine, telles que les IgG (150 kDa), avec une proportion d'albumine inférieure à 80 %. Elle constitue la plupart des protéinuries observées au cours des néphropathies glomérulaires et témoigne de lésions histologiques plus étendues ou plus sévères, et en général visibles en microscopie optique.

La sélectivité peut être quantifiée par l'index de Cameron, ou l'une des formules dérivées, par exemple (IgG urine/IgG sérum)/(Transferrine urines/transferrine sérum), mais qui est peu utilisée en clinique.

**Protéinuries tubulaires** : elles résultent d'un trouble de réabsorption tubulaire proximal (tubulopathie proximale toxique, médicamenteuse, ischémique, inflammatoire ou congénitale). Les protéines de bas poids moléculaire sont augmentées :  $\beta$ 2-microglobuline (12 kDa), lysozyme (15 kDa), *retinol binding protein* (RBP) (21 kDa),  $\alpha$ 1-microglobuline (33 kDa). La protéinurie tubulaire peut contenir de l'albumine, en général < 25 % de la protéinurie totale. Chez l'adulte, l'intérêt principal du dosage de ces protéines réside dans le dépistage précoce et le suivi évolutif de tubulopathies proximales médicamenteuses (pouvant être responsable d'un syndrome de Fanconi plus ou moins complet).

**Protéinuries de surcharge** : elles résultent d'une augmentation de synthèse de protéines de faible poids moléculaire : chaînes légères libres kappa ou lambda au cours des dys-globulinémies, lysozyme (leucémie myélomonocytaire), orosomucoïde (cancer bronchique), ou de la libération de protéines intracellulaires comme la myoglobine dans la rhabdomyolyse, ou l'hémoglobine dans l'hémolyse intra-vasculaire, qui dépassent les capacités de réabsorption tubulaire proximale (Taux maximal de réabsorption,  $T_m$ ). Une protéinurie de surcharge sera suspectée pour un rapport (albumine + IgG +  $\alpha$ 1-microglobuline)/protéinurie  $\leq 0,3$ , mais ce rapport est peu utilisé en pratique. La cause la plus fréquemment rencontrée est la protéinurie à chaînes légères d'immunoglobulines, au cours de gammopathies monoclonales. Au cours du myélome, un débit urinaire de plus de 2 g/L de chaînes légères libres expose au risque de précipitation tubulaire avec la protéine de Tamm-Horsfall et d'insuffisance rénale aiguë (tubulopathie myélomateuse). **Protéinuries mixtes** : associant protéines de haut poids moléculaire et de bas poids moléculaire, elles témoignent d'une maladie rénale avancée avec atteinte glomérulaire secondaires (hyalinose segmentaire et focale liée à la réduction néphronique), fibrose interstitielle et atrophie tubulaire. Cette forme de protéinurie est fréquemment observée en clinique néphrologique, notamment chez les patients porteurs d'une insuffisance rénale chronique, qu'elle qu'en soit la cause. Il faut noter qu'une discordance entre une protéinurie totale importante et une faible albuminurie doit faire évoquer la présence de chaînes légères libres dans les urines en grande quantité. Elle peut également être observée en cas d'artefact technique en cas de dosage immunologique quand l'albuminurie est majeure, et les anticorps permettant le dosage sont « trappés » par l'albumine, induisant ainsi une sous-estimation du résultat.

## L'ALBUMINURIE D'ORIGINE TABULAIRE

La présence d'albumine dans une protéinurie témoigne classiquement de l'existence d'altérations d'une ou de plusieurs composantes de la barrière de filtration glomérulaire, aboutissant à une augmentation de la perméabilité glomérulaire : altération de l'endothélium, perte des charges électronégatives de la barrière de filtration glomérulaire, anomalie de la structure de la membrane basale glomérulaire, dépôts de protéines au contact de la membrane basale ou lésions podocytaires.

Le modèle de la très grande sélectivité de la barrière de filtration glomérulaire vis-à-vis de l'albumine qui était basé sur des techniques de microponction de la chambre urinaire et qui a prévalu pendant des décennies a été remis en cause par l'utilisation de techniques de microscopie bi photonique permettant de tracer l'albumine au travers du glomérule, et de quantifier sa réabsorption tubulaire proximale [3].

Ainsi, il a été évalué que le débit d'albumine dans la chambre urinaire en situation physiologique était de l'ordre de 2 grammes par jour, ce qui correspond à la capacité de réabsorption tubulaire de l'albumine, par voie d'endocytose, de dégradation lysosomale et par voie de transcytose, c'est-à-dire de transfert de cargos du pôle apical au pôle basai, sans dégradation par le lysosome [4, 5]. Par conséquent, l'existence d'une tubulopathie (médicamenteuse, génétique, toxique) peut s'accompagner d'une albuminurie, en général de faible débit [3]. Bien qu'initialement controversé, ce modèle est actuellement admis comme pouvant participer à la constitution d'une albuminurie, et n'est en aucun cas exclusif de la participation des atteintes de la barrière de filtration glomérulaire accompagnées d'une augmentation de la perméabilité glomérulaire à l'albumine.

## LA (MICRO)ALBUMINURIE

Le terme de microalbuminurie désigne l'excrétion urinaire d'albumine en quantité très faible, intermédiaire entre les valeurs physiologiques qui sont d'environ 30 mg/24 h et les protéinuries franches, supérieures à 300 mg/24h. Le dosage spécifique de l'albuminurie fait appel dans ce cas à des techniques spécifiques et très sensibles d'immuno-turbidimétrie et d'immuno-néphélométrie avec un seuil de quantification de l'ordre de 5 à 10 mg/L, soit sous le seuil diagnostique de la microalbuminurie qui est de 20 mg/L environ (30 mg/24h). Le dosage spécifique de l'albuminurie est principalement utilisé pour évaluer la néphropathie du diabétique de type 1, qui peut être liée à une augmentation de la perméabilité de la membrane basale glomérulaire, et/ou une hypertension intraglomérulaire, et constitue un facteur de risque cardio-vasculaire, indépendamment de l'existence d'une maladie rénale.

## LE SYNDROME NEPHROTIQUE

Le syndrome néphrotique répond à une définition biologique qui associe une protéinurie supérieure à 3 g/24h chez l'adulte ( $> 50$  mg/kg/j chez l'enfant) à une albuminémie inférieure à 30 g/L. Le syndrome néphrotique est pur en l'absence d'hématurie microscopique ou d'hypertension artérielle ou d'insuffisance rénale organique, et, en cas de positivité d'un de ces 3 paramètres, le syndrome néphrotique est impur.

La distinction « pur »/« impur » oriente vers un certain type de pathologies : certaines comme la néphropathie à lésions glomérulaires minimales, la glomérulonéphrite extra membraneuse ou l'amylose donnent volontiers des syndromes néphrotiques purs, mais pas exclusivement. À l'inverse, de nombreuses glomérulopathies produiront en général des syndromes néphrotiques impurs (diabète, hyalinose segmentaire et focale, syndrome d'Alport, glomérulonéphrites avec prolifération endocapillaire...). La définition du syndrome néphrotique est une catégorisation syndromique un peu artificielle sur le plan du diagnostic histologique, et il faut comprendre que les pathologies glomérulaires responsables d'un syndrome néphrotique peuvent tout aussi bien être responsables de syndromes néphrotiques « incomplets » ou de protéinuries de haut débit avec hypoalbuminémie sans répondre à la définition stricte du syndrome néphrotique. En pratique, toute protéinurie de débit « glomérulaire », néphrotique ou non, doit faire discuter la réalisation d'une biopsie rénale. Par contre, le risque de survenue de complications métaboliques causées par ou associées à une fuite protéique urinaire sera corrélé à la sévérité de la fuite, et a fortiori, à la présence ou non d'un syndrome néphrotique. Dans ce cas, il s'agit d'un seuil au-delà duquel des complications systémiques ont un risque significatif d'apparaître.



## INTERET CLINIQUE DU DOSAGE ET DU TYPAGE DE LA PROTEINURIE

En pratique clinique, on distingue un certain nombre de situations médicales au cours desquelles le dosage et le typage de la protéinurie ont un intérêt clairement démontré, sur le plan diagnostique, pronostique ou thérapeutique. L'évaluation de l'albuminurie réalisée lors d'un typage de protéinurie est un critère de la classification des différents types de protéinurie. Donc cette évaluation de l'albuminurie est systématiquement renseignée lors d'une prescription de typage de la protéinurie chez ce type de patients. Les principales indications du typage de la protéinurie sont les suivantes :

### ORIENTATION DIAGNOSTIQUE DEVANT UNE NEPHROPATHIE AIGUË OU CHRONIQUE

Le typage de la protéinurie est essentiel car il va déterminer l'indication de la réalisation d'une ponction biopsie rénale, qui est un geste invasif nécessitant une hospitalisation, mais qui permet de poser le diagnostic histologique de la maladie glomérulaire, et de proposer un traitement adapté. En pratique, l'indication de la biopsie est posée devant une protéinurie d'origine glomérulaire sauf si la cause est évidente cliniquement (diabète avec rétinopathie, amylose prouvée, syndrome néphrotique pur de l'enfant...). Le recours à la biopsie en cas de protéinurie tubulaire est moins systématique.

### DEPISTAGE ET DIAGNOSTIC DE LA MALADIE RENALE CHRONIQUE

La maladie rénale chronique (MRC) est définie indépendamment de sa cause, par la présence, pendant plus de 3 mois, de marqueurs d'atteinte rénale (hématurie et/ou protéinurie) ou d'une baisse du débit de filtration glomérulaire estimé (DFG estimé) au-dessous de 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>. Son dépistage est à réaliser tous les ans chez les individus à risque (recommandations de la HAS) en associant un dosage de la créatininémie avec estimation du débit de filtration glomérulaire à un dosage de l'albuminurie réalisé sur un échantillon urinaire, et dont le résultat est exprimé sous la forme d'un ratio albuminurie/créatininurie. Le diagnostic de MRC fait entrer le patient dans un parcours de soins adapté et spécifique. Par ailleurs, le suivi de ces patients montre souvent une protéinurie glomérulaire sélective, puis non sélective, puis mixte avec une discrète tubulopathie partielle puis, éventuellement, une tubulopathie complète en parallèle d'une diminution de la fonction rénale, ce qui peut constituer une indication au typage de la protéinurie.

**Tableau 1.** Définition de la protéinurie et des albuminuries.

	Urines des 24 h (mg/24h)	Rapport protéinurie/créatininurie (g/mmol)	Rapport protéinurie/créatininurie (g/g)
Protéinurie	> 300	> 30	> 0,3
Microalbuminurie	30 - 300	3-30	0,03-0,3
Macroalbuminurie	> 300	> 30	> 0,3

## DIAGNOSTIC ET SUIVI D'UNE TUBULOPATHIE PROXIMALE

Le typage d'une protéinurie tubulaire est utile au dépistage d'une dysfonction tubulaire proximale chez les patients à risque. Elle s'intègre dans un tableau biologique plus ou moins complet de syndrome de Fanconi associant une hypouricémie, une hypophosphatémie, une acidose tubulaire proximale, une glucosurie, une amino-acidurie, et une uricosurie. En dehors des cas rares de tubulopathies congénitales (Cystinoses, cytopathies mitochondriales, syndrome de Dent, syndrome de Lowe), d'intoxication aux métaux lourds (plomb, cadmium), ou de dépôts de chaînes légères libres kappa, le dépistage et le suivi d'une protéinurie tubulaire sont utiles chez les patients recevant des traitements tubulotoxiques comme l'Ifosfamide, les aminosides, le cis-platine, ou le tenofovir disoproxil. En effet, ces molécules sont réabsorbées par le tubule proximal, et induisent une dysfonction cellulaire.

## DEPISTAGE ET DIAGNOSTIC D'UNE GAMMAPATHIE MONOCLONALE

Le typage de la protéinurie est indiqué dans deux cadres particuliers. Il est recommandé dans le cadre du diagnostic du myélome multiple, en association avec l'électrophorèse des protéines sériques, sur un échantillon urinaire pour le dépistage puis sur urines de 24 h pour quantifier la protéinurie [6, 7]. Il est également recommandé dans le suivi de la réponse au traitement des myélomes, en association avec la quantification de la chaîne légère libre dans les urines. Le *tableau 2* résume les gammapathies monoclonales pour lesquelles le typage de la protéinurie est recommandé par les sociétés savantes ou l'HAS, d'après Oudart *et al.* [8]. L'immunofixation reste nécessaire à la caractérisation du clone lymphocytaire B responsable en confirmant le pic et en permettant de typer la chaîne légère libre urinaire [9, 10]. Elle peut également permettre le diagnostic des myélomes à chaînes légères libres, qui ne produisent pas d'immunoglobuline monoclonale.

## DEPISTAGE ET DIAGNOSTIC D'UNE ATTEINTE RENALE AU COURS D'UNE GAMMAPATHIE MONOCLONALE

Enfin, le typage d'une protéinurie est utilisé pour l'établissement du profil des protéines excrétées au cours de l'IR compliquant le myélome multiple, en association avec un dosage de la créatininémie et des électrolytes [11]. Les atteintes rénales survenant au cours d'une gammapathie monoclonale sont classées en deux entités clinico-biologiques :

- la néphropathie à cylindres myélomateux (NCM) ou tubulopathie myélomateuse est la plus fréquente des complications rénales du myélome. Elle se produit lors de la précipitation intratubulaire de chaînes légères libres d'immunoglobuline monoclonale avec la protéine de Tamm-Horsfall. Il n'y a pas de surreprésentation d'un isotype particulier de chaîne légère. Elle s'observe plus souvent au cours des myélomes à chaînes légères libres. Le diagnostic est posé le plus souvent au cours d'une insuffisance rénale aiguë, volontiers révélatrice du myélome et qui est sévère et sans signe d'accompagnement en dehors d'une altération de l'état général ou de douleurs osseuses. La protéinurie, souvent de fort débit ( $> 2$  g/24h), est constituée essentiellement de chaînes légères libres. L'électrophorèse des protéides urinaire en gel d'agarose-SDS met en évidence un pic étroit dans la zone des globulines généralement présent au niveau d'une bande de mobilité de 25 kDa, qui fait suspecter la présence d'une protéine de caractère monoclonal (mais peut se retrouver n'importe où sur le gel du fait d'une polymérisation de ces chaînes légères libres), et permet d'évaluer la composition de la protéinurie. Dans ce cas, l'albuminurie représente typiquement moins de 10 % des protéines urinaires. La présence d'une albuminurie  $> 1$  g/24h doit faire rechercher une atteinte glomérulaire associée à des dépôts d'immunoglobuline (amylose...).

Il faut noter que la dissociation entre une protéinurie détectée par le dosage pondéral des protéines urinaires et une bandelette réactive négative (qui ne détecte pas les chaînes légères)

doit faire suspecter la présence chaînes légères libres dans les urines. L'immunofixation des protéines sériques et urinaires est indispensable pour identifier l'immunoglobuline monoclonale sécrétée dans le sérum, confirmer la présence de chaînes légères monoclonales dans l'urine et en préciser l'isotype. Le diagnostic de NCM est peu probable si le taux de chaînes légères libres sériques est inférieur à 500 mg/L ; - la seconde catégorie regroupe les néphropathies liées à des dépôts glomérulaires ou tubulaires d'immunoglobulines, de chaînes légères libres ou de chaînes lourdes isolées survenant le plus souvent dans un contexte de clone B de faible volume et de faible malignité. Ces dernières ont récemment été regroupées sous le terme de *Monoclonal gammopathy of renal significance* (MGRS). Dans tous les cas, Les examens immunochimiques (électrophorèse sérique et urinaire, immunofixation sérique et urinaire, dosage des chaînes légères libres sériques) sont nécessaires pour identifier et mesurer la protéine monoclonale.

L'amylose AL se caractérise par le dépôt extracellulaire d'un matériel protéique composé de chaînes légères libres monoclonales (le plus souvent lambda) et d'autres protéines (composant amyloïde P), organisé en feuillets  $\beta$ -plissés formant des fibrilles. Elle s'accompagne d'une protéinurie volontiers néphrotique et d'une insuffisance rénale progressive.

La maladie des dépôts de chaînes d'immunoglobulines monoclonales comporte des dépôts non amyloïdes d'immunoglobulines monoclonales, généralement des chaînes légères isolées (LCDD, syndrome de Randall). Elle s'accompagne d'une protéinurie de fort débit, souvent néphrotique, accompagnée d'une insuffisance rénale et parfois d'une hématurie.

Le syndrome de Fanconi est caractérisé par des anomalies des transports tubulaires proximaux en lien avec des dépôts intracellulaires de chaînes légères libres, souvent kappa. Une protéinurie faite de protéines de faible poids moléculaire peut s'observer, en association avec des signes biologiques de tubulopathie proximale, tels que : glycosurie normoglycémique, hypouricémie par fuite urinaire, diabète phosphaté source d'ostéomalacie à long terme, amino-acidurie généralisée, acidose métabolique tubulaire proximale (type 2), hypokaliémie avec kaliurèse inadaptée, insuffisance rénale lentement progressive.

**Tableau 2.** Indications du typage des protéinuries par EPU d'après Oudart et al. [8].

Type de gammapathies	EPU pour dépistage	EPU pour suivi thérapeutique
GMSI	-	mais + si signes cliniques
MM	+	+
Waldenström	-	-
Amylose AL	+	+
Plasmocytome	+	+

GMSI : gammapathie de signification indéterminée ; MM : myélome multiple.

## EN RESUME, LE TYPAGE D'UNE PROTEINURIE : POUR QUI, POUR QUOI ?

Ainsi, en pratique quotidienne, le typage d'une protéinurie devrait être demandé essentiellement par les néphrologues, les hématologues, les internistes et les physiologistes rénaux. Le typage des protéinuries recouvre la prise en charge de deux grands cadres nosologiques : l'évaluation d'une maladie rénale, aiguë ou chronique, avec une finalité majeure qui est de poser l'indication d'une biopsie rénale ; et d'autre part le dépistage et la prise en charge d'une gammapathie monoclonale, avec ou sans atteinte rénale associée. Dans des cas moins fréquents, le typage est utile à l'évaluation et le suivi d'une tubulopathie proximale ou permet de documenter une maladie produisant une protéinurie de surcharge. Il est important de savoir que les pratiques de prescription et l'apport du typage d'une protéinurie dépendent beaucoup des habitudes de chaque prescripteur et des pathologies qu'il prend en charge.

## Techniques de typage des protéinuries

Les techniques actuellement disponibles dans les laboratoires de biologie permettent d'une part, l'identification des protéines urinaires à des fins diagnostiques et d'autre part leur quantification dans le suivi ou le pronostic des pathologies rénales ou extra-rénales dont elles sont souvent l'un des signes biologiques les plus précoces. Sous le terme de typage de la protéinurie, on sous-entend classiquement électrophorèse des protéines urinaires (EPU), mais existe désormais d'autres moyens de typer une protéinurie. Nous allons tout d'abord présenter les différentes méthodes d'EPU actuellement disponibles et aborderons ensuite le profil protéique urinaire (PPU).

### HYDRAGEL URINE PROFILE (SEBIA)

Ce kit permet l'identification des principales protéines urinaires, la détection des immunoglobulines monoclonale G, A, M, (D, E) et la détection et l'identification des chaînes légères libres monoclonales kappa ou lambda urinaires. L'électrophorèse est couplée à l'immunofixation réalisée sur des urines non concentrées. Il s'agit d'une électrophorèse en gel d'agarose où les protéines urinaires sont séparées en milieu alcalin (pH 9,2) puis immunoprécipitées par des antisérums spécifiques. Les anti-sérums anti- $\beta$ 2-microglobuline, *anti-retinol binding protein* et anti- $\alpha$ 1-microglobuline sont utilisés pour caractériser la protéinurie tubulaire, et les anti-sérums anti-albumine et anti- $\alpha$ 2 macroglobulinémie pour la protéinurie glomérulaire, anti-chaînes lourdes (IgG, A, M) et anti-chaînes légères (kappa et lambda totales et libres) pour le typage de l'Ig monoclonale.

La limite de détection est de l'ordre de 6 mg/L pour les protéinuries tubulaires, 3 mg/L pour les protéinuries glomérulaires et 50 mg/L pour les chaînes légères libres kappa ou lambda [12].

### INTERPRETATION

L'électrophorèse réalisée sur la première piste du gel, sans anti-sérum spécifique, détecte les différentes protéines présentes dans les urines. Une quantification de ces composants est effectuée par analyse densitométrique. Le typage de la protéinurie et du composé monoclonal sont réalisés avec les différents anti-sérums sur les autres pistes du gel. Une protéinurie physiologique se caractérise par un taux normal de protéinurie et ne visualise qu'une faible fraction d'albumine. Une protéinurie tubulaire est caractérisée par la présence d'au moins une des protéines révélées par les anti-sérums anti- $\beta$ 2-microglobuline, *anti-retinol binding protein* et/ou anti- $\alpha$ 1-microglobuline. Une protéinurie glomérulaire est caractérisée par la fraction albumine révélée par l'anti-sérum anti-albumine.

Sa présence isolée permet de conclure à une protéinurie glomérulaire sélective. La présence d'une bande en gamma et sur la piste GAM permet de conclure à une protéinurie glomérulaire

non sélective. La présence d'une réaction positive avec l'anti- $\alpha$ 2-macroglobulinémie révèle une contamination probable par du sang (protéinurie post-rénale). Une protéinurie mixte est caractérisée par la présence de protéines tubulaires et glomérulaires. Cette technique permet également de mettre en évidence une protéinurie de surcharge de CLL monoclonales sans lésions rénales détectables. Celle-ci est révélée par la présence d'une bande fine en présence d'un antisérum anti-chaînes légères (libres et liées) et (libres) kappa ou lambda. L'interprétation de ces profils urinaires est rendue plus reproductible entre les biologistes et transposable entre les laboratoires grâce à l'utilisation de textes prêts à l'emploi formalisés par Szymanowicz *et al.* [12].

## AVANTAGES/INCONVENIENTS

Sur un même gel est réalisé le typage de la protéinurie et l'identification du composé monoclonal avec son typage.

La quantification de ce composé monoclonal, Ig complète et chaînes légères peut se faire par intégration des bandes visualisées au niveau de la piste électrophorèse. Ainsi le typage de la protéinurie, l'identification et la quantification des chaînes légères peuvent répondre d'emblée aux recommandations de l'HAS lors du diagnostic du MM. Par contre, lors du suivi de la réponse au traitement, l'identification du composé monoclonal n'est plus recommandée, seules doivent être réitérés le typage de la protéinurie et la quantification du pic. L'utilisation d'antisérums dans cette technique la rend alors coûteuse par rapport à une EPU classique [8].

La qualité du gel pouvant se dégrader avec le temps, il est nécessaire de faire la lecture et l'interprétation rapidement après l'analyse. Des urines dégradées ou présentant une quantité importante en sels peuvent interférer sur l'analyse.

## HYDRAGEL PROTEINURIE (SEBIA, ORGENTEC)

Il s'agit d'une électrophorèse en gel d'agarose en présence de dodécyl sulfate de sodium (SDS-AGE). Ainsi, les protéines migrent en fonction de leur masse moléculaire [13]. Cela permet le typage de la protéinurie sur des urines non concentrées. Cette électrophorèse sépare clairement les protéines de bas PM (protéines tubulaires) des protéines de PM supérieur à l'albumine (protéines glomérulaires). L'identification des fractions protéiques présentes est possible grâce à un contrôle de masse moléculaire. Une quantification des diverses protéines peut être réalisée par intégration densitométrique des bandes. Cette technique permet la détection de fractions protéiques de l'ordre de 15 mg/L [13]. Les taux physiologiques urinaires de certaines fractions protéiques étant inférieurs à 10 mg/L, la détection d'une protéine par cette technique permet de conclure à sa présence anormale.

## INTERPRETATION

Nous avons proposé un schéma de synthèse pour une interprétation simplifiée des profils urinaires obtenus avec cette technique SDS-AGE [14]. Nous proposons un tableau actualisé de commentaires interprétatifs simplifiés (*tableau 3*). Les chaînes légères libres de faibles PM migrent dans la zone des protéines tubulaires mais ne signent pas obligatoirement une lésion tubulaire (contrairement à certaines données des industriels) [14]. La protéinurie tubulaire se caractérise par la présence d'au moins une des protéines, alpha-1-microglobuline ou bêta-2-microglobuline et éventuellement de la RBP, sans considérer la présence de chaînes légères. La suspicion de la présence de chaînes légères doit donc être signalée explicitement aux interprétations des lésions rénales [14].

**Tableau 3.** Propositions de textes pour l'interprétation du typage (SDS-AGE).

Commentaire	Arguments déclenchants
EPU non réalisée	Protéinurie < 0,05 g/L



Hématurie trop importante, sang sur bandelette > +++	
<b>Protéinurie &lt; 0,2 g/L ou &lt; 0,2 g/g ou &lt; 20 g/mmol</b>	
Absence de bande	
Protéinurie physiologique	Bande d'albumine présence normale (bien visible mais de faible intensité)
Présence d'albumine	Bande d'albumine seule et plus soutenue
Présence de traces de chaînes légères libres	Bandes CLL faiblement visibles
Présence de chaînes légères (monomères et dimères)	Bandes CLL bien visibles
<b>Protéinurie &gt; 0,2 g/L ou &gt; 0,2 g/g ou &gt; 20 g/mmol</b>	
Présence d'albumine	Bande d'albumine seule, protéinurie < 0,5 g/g
Attention aux chaînes légères polymérisées	
Protéinuries de surcharge :	
CLL	Bande Alb normale, présence de CLL ++ (monomères, dimères ou CL polymérisées)
Lysozyme	Bande Alb normale, présence de lysozyme ++
Protéinurie glomérulaire sélective	Albumine > 80 %, Tf, Ig faible (< 10 % protéinurie)
Protéinurie glomérulaire non sélective	Albumine < 80 %, Tf, Ig intense (> 10 % protéinurie)
Protéinurie glomérulaire avec présence de chaînes légères	Supra et bandes CLL bien visibles
Protéinurie tubulaire	Albumine normale, présence de l'une des protéines : $\alpha 1m$ , $\beta 2m$ , RBP
Protéinurie tubulaire avec présence de chaînes légères	Supra et bandes CLL bien visibles
Protéinurie mixte (glomérulaire et tubulaire)	(Alb, Tf, Ig) et (RBP, $\alpha 1m$ , $\beta 2m$ )
Protéinurie mixte avec présence de chaînes légères	Supra et bandes CLL bien visibles
Protéinurie mixte à prédominance glomérulaire	[(Alb, Tf, Ig) > 50 %] et (RBP, $\alpha 1m$ , $\beta 2m$ )
Protéinurie mixte à prédominance tubulaire	(Alb, Tf, Ig) et [(RBP, $\alpha 1m$ , $\beta 2m$ ) > 50 %]

Alb : albumin ; CLL : chaînes légères libres ; Tf : transferrine ; Ig : immunoglobuline ; RBP: retinol binding protein ;  $\alpha 1m$  : alpha-1-microglobuline ;  $\beta 2m$  : bêta-2-microglobuline.

## AVANTAGES/INCONVENIENTS

La technique SDS-AGE permet une identification des différentes fractions protéiques, en fonction de leur PM, et donc le typage de la protéinurie. Elle permet de conclure facilement à une protéinurie de surcharge, quelle que-soit la cause. La détection des CLL monoclonales et leur quantification sont possibles ce qui permet en une seule analyse et donc avec un coût moindre, de suivre l'évolution des CLL sous traitement et les complications rénales des patients myélomateux. Cette technique moins coûteuse que l'urine profile est mieux adaptée aux grandes séries [12]. Cependant, la présence d'une bande de mobilité de 25 kDa fera suspecter la présence de CLL dont la distinction poly-clonales ou monoclonales ne pourra être faite que dans le contexte clinico-biologique du suivi d'un patient. Dans le cadre du diagnostic d'un MM, l'identification et le typage de ces CLL devront être réalisés par une immunofixation urinaire.

L'autre inconvénient de cette technique est que la présence de SDS modifie chez certains patients les charges des chaînes légères qui ont tendance à se polymériser. Parfois, les CLL migrent dans le gel au même niveau que l'albumine, la transferrine, les immunoglobulines ou l'alpha-2-macroglobuline. Il est alors recommandé de quantifier l'albuminurie (par néphélométrie ou turbidimétrie) et de traiter l'échantillon par un agent réducteur afin de dépolymériser ces chaînes légères pour mieux les quantifier [13, 15].

Pour une description complète des techniques d'EPU, nous devons citer les deux suivantes, mais qui sont « hors-thème ».

## HYDRAGEL 7HR AGAROSE OU 15HR AGAROSE

L'électrophorèse est réalisée sur un gel d'agarose non dénaturant à partir d'urines concentrées au préalable. La migration se fait donc en fonction du PM mais également en fonction de la charge des protéines. Cette technique permet de mettre en évidence un pic monoclonal et sa quantification par intégration de l'aire sous le pic, mais ne permet pas le typage des protéinuries, ni l'identification des protéines monoclonales, CLL ou Ig complète, qui nécessite une IFU. Elle est donc réservée au suivi de l'efficacité des traitements.

## CAPILLARYS/MINICAP URINE

Un des derniers développements de la société Sebia est la mise sur le marché de kits permettant l'EPU avec un programme dédié sur les automates Capillarys et Capillarys Flex Piercing. Les urines doivent être dialysées au préalable. Les possibilités d'utilisation offertes sur ces automates sont les mêmes que celles décrites ci-dessus et ne permettent pas non plus le typage des protéinuries.

## PROFIL PROTEIQUE URINAIRE (PPU)

Les dosages quantitatifs de nombreuses protéines urinaires ont été développés depuis plusieurs années. Ils concernent des protéines urinaires utilisées comme biomarqueurs de l'insuffisance rénale aiguë tels que : *neutrophil gelatinase associated lipocalin* (NGAL), *kidney injury molecule-1* (KIM-1), *liver-type fatty acid binding protein* (L-FABP), interleukine-18 (IL-18), cystatin C, et le produit *tissue inhibitor of metalloproteinase-2* (TIMP-2), *insulin-like growth factor binding protein-7* (IGFBP-7) [16-20]. Bien que leur pertinence physiopathologique dans l'insuffisance rénale aiguë ait été démontrée, leur utilisation en pratique clinique reste à définir. En revanche, le dosage d'un panel de protéines urinaires est utilisé depuis plus de 10 ans par certaines équipes hospitalières pour le typage des protéinuries. Les stratégies employées combinent le plus souvent le dosage de plusieurs protéines, biomarqueurs tubulaires et glomérulaires, dont les données sont intégrées, ou non, dans un logiciel d'analyse [21-24]. Les protéines fréquemment utilisées pour les biomarqueurs glomérulaires sont l'albumine, la transferrine et l'IgG et pour les biomarqueurs tubulaires la bêta-2-microglobuline, l'alpha-1-microglobuline et la *retinol binding protein* (RBP). Leur dosage est réalisé classiquement en immuno-néphélométrie avec un seuil de détection allant de 0,01 mg/L pour la RBP à 4 mg/L pour l'alpha-1-microglobuline. L'utilisation d'un panel de ces biomarqueurs sous forme de profil comme décrit précédemment [21-24] permet un typage des protéinuries même dans le cas de protéinurie totale non détectable compte tenu de la sensibilité des dosages des protéines spécifiques urinaires. Une équipe a proposé un algorithme d'interprétation des protéinuries à partir des dosages de protéinurie totale, d'albumine, d'alpha-1-microglobuline, d'IgG et de bêta-2-microglobuline rapportés à la créatinine urinaire [22].

Une autre équipe a développé un logiciel « MDI Lablink » qui permet le typage de la protéinurie à partir du dosage d'un minimum de 2 protéines dont l'albumine (origine glomérulaire) et l'alpha-1-microglobuline (origine tubulaire) associés à celui de la protéinurie totale et de la créatinine urinaire [24]. Le nombre de protéines dosées peut ensuite être augmenté pour un typage plus précis de la protéinurie en fonction du contexte clinique. Ce logiciel, a été conçu à partir de résultats obtenus sur 2305 échantillons d'urines provenant de services de néphrologie, analysés et confrontés aux données cliniques et électrophorétiques [24]. L'index de sélectivité utilisé dans ce logiciel repose sur le rapport transferrine/IgG urinaire qui est corrélé à l'index de Cameron [25]. L'alpha-1-microglobuline a été choisi comme premier biomarqueur d'atteinte tubulaire à doser du fait de sa bonne stabilité en milieu acide (contrairement à la bêta-2-microglobuline qui est néanmoins un excellent biomarqueur d'atteinte tubulaire à condition de respecter les conditions pré-analytiques d'alcalinisation des urines), de sa concentration suffisante dans l'urine et de son apparition urinaire précoce en cas de tubulopathie [26]. Les protéinuries de surcharge sont définies dans le logiciel selon le rapport (albumine + IgG + alpha 1-microglobuline/protéinurie totale). Un écart élevé entre la quantité de la protéinurie totale et la somme des protéines tubulaires et glomérulaires dosées donne un indice d'alerte qui oriente vers la recherche d'une protéinurie de surcharge de type chaîne légère libre d'Ig (ou protéinurie de Bence Jones).

En pratique, on commence par le dosage de la protéinurie totale, de la créatininurie et de deux marqueurs protéiques testant le glomérule (albumine) et le tubule (alpha 1-microglobuline). Dans un deuxième temps, des biomarqueurs complémentaires sont dosés quand le rapport albumine sur créatinine et/ou le rapport alpha-1-microglobuline sur créatinine dépassent les seuils de 3 mg/mmol et 2,26 mg/mmol, respectivement [27,28]. Les biomarqueurs urinaires complémentaires sont la transferrine, qui permet de confirmer l'altération glomérulaire et les IgG, qui orientent vers la présence d'altérations de la barrière de filtration glomérulaire plus importantes. Les altérations tubulo-interstitielles, suspectées par une augmentation du rapport alpha-1-microglobuline/créatinine, sont complétées par le dosage de RBP urinaire dont les valeurs sont particulièrement élevées en cas de dysfonctionnement sévère des cellules tubulaires proximales ou en présence de fibrose tubulo-interstitielle. Ces résultats sont alors disponibles sous forme graphique associant les résultats précédant sous forme d'histogramme en trois dimensions qui reprend les antécédents et permet le suivi évolutif de chaque marqueur, le cas échéant, comme cela a été récemment illustré [21]. En pratique clinique, il est pertinent de réaliser un PPU quand :

- le rapport protéinurie totale/créatininurie est supérieur à 30 mg/mmol ;
- pour l'évaluation de patients présentant un DFG  $< 60$  mL/min/1,73m<sup>2</sup> ;
- quand les patients sont exposés à un risque rénal spécifique, y compris des affections néphrotoxiques ou extrarénales telles qu'une infection ou une maladie systémique.

## AVANTAGES/INCONVENIENTS

Le PPU peut être réalisé sur un volume minimal de 0,5 mL d'urine non concentrée, au coup par coup. Les protéines sont dosées par immunonéphélométrie : méthode spécifique et analytiquement très sensible. Les résultats peuvent être disponibles le jour du prélèvement et sont indépendants de l'opérateur. L'interprétation des résultats est également indépendante du biologiste validant, ce qui assure un excellent suivi qualitatif et quantitatif des anomalies urinaires.

Le PPU permet, dans le cadre du suivi d'un patient présentant une glomérulopathie, de dépister précocement l'apparition d'une composante tubulaire de la protéinurie qui peut être liée à la prise d'un médicament tubulotoxique, ou être le témoin d'une aggravation de sa néphropathie. Outre le rendu sous forme de PPU, certaines protéines spécifiques telles que le bêta 2-microglobuline ou la transferrine peuvent être prédicteurs d'entités cliniques plus spécifiques [29].

Le dosage des protéines spécifiques urinaires réalisé sur un néphélémètre permet d'être intégré aisément dans une activité de laboratoire de biochimie sans impacter un poste technique spécifique dédié au typage des protéinuries. Dans le cas d'une protéinurie d'origine myélomateuse, le PPU ne peut qu'alerter sur la suspicion de la présence d'une protéinurie de surcharge et le diagnostic nécessite le recours à l'immunotypage.

Compte tenu de la rapidité et de la facilité d'obtention des résultats, il faut être vigilant pour éviter l'inflation des demandes en milieu hospitalier et en particulier pister les redondances de prescriptions.

## Conclusion

Le typage d'une protéinurie est une étape essentielle dans la prise en charge de patients porteurs d'une maladie rénale ou porteurs d'une hémopathie, et qui s'intègre dans une prise en charge diagnostique globale, clinique et biologique. De nombreux outils de typage sont à la disposition des biologistes et des médecins, complémentaires entre eux, mais avec chacun des avantages et des limites qu'il convient de connaître. Nous pensons qu'un dialogue clinico-biologique, concernant notamment la sémiologie biologique et les attentes des cliniciens, est essentiel dans l'interprétation et le rendu des typages de protéinuries, afin que celles-ci gardent tout leur intérêt clinique.

## Références

1. Akilesh S, Huber TB, Wu H, Wang G, Hartleben B, Kopp JB, *et al.* Podocytes use FcRn to clear IgG from the glomerular basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 :967-72.
2. Nielsen R, Christensen EI, Birn H. Megalin and cubilin in proximal tubule protein reabsorption : from experimental models to human disease. *Kidney Int* 2016 ; 89 :58-67.
3. Dickson LE, Wagner MC, Sandoval RM, Molitoris BA. The proximal tubule and albuminuria : really ! *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 :443-53.
4. Russo LM, Sandoval RM, Brown D, Molitoris BA, Comper WD. Controversies in nephrology : response to 'renal albumin handling, facts, and artifacts'. *Kidney Int* 2007 ; 72:1195-7.
5. Russo LM, Sandoval RM, McKee M, Osicka TM, Collins AB, Brown D, *et al.* The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells : retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int* 2007 ; 71:504-13.
6. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand J, Rajkumar V, Miguel J, Chanan-Khan A. Consensus recommendations for standard investigative workup : report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011;117:4701-5.
7. HAS/INC ALD30 Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique, <https://www.has-sante.fr>.
8. Oudart J, Maquart F, Ramont L. Synthèse sur la prise en charge des gammopathies monoclonales en biochimie : des recommandations à la pratique quotidienne. *Ann Biol Clin* 2012 ; 70:251-61.
9. Bird J, Behrens J, Westin J, Turesson I, Drayson M, Beetham R, *et al.* UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG) : guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol* 2009 ; 147 :22-42.
10. Dejoie T, Lakomy D, Caillon H, Pegourie B, Decaux O. IFM (Intergroupe francophone du myelome) recommendations for uniform interpretation of serum and urine protein

electrophoresis in multiple myeloma diagnosis and follow-up. *Ann Biol Clin* 2016 ; 74 :429-41.

11. Dimopoulos M, Sonneveld P, Leung N, Merlini G, Ludwig H, Kas-tritis E. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol* 2016 ; 34 :1544-57.
12. Szymanowicz A, Neyron M, Denis I. Proposition de textes interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines urinaires. *Spectra Biol* 2006; 155:41-51.
13. Le Bricon T, Erlich D, Bengoufa D, Dussaucy M, Garnier J, Bousquet B. Sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis of urinary proteins : application to multiple myeloma. *Clin Chem* 1998 ;44 :1191-7.
14. Camaré C, Causse E. Urinary protein electrophoresis, which analysis to select ? A simplified interpretation. *Ann Biol Clin* 2013 ; 71 :667-78.
15. Nel I, Thiolières J, Ghillani-Dalbin P, Jacquiaud C, Piéroni L. Unex-pected migration of free light chains in urinary protein electrophoresis. *Ann Biol Clin* 2017 ; 75 :75-82.
16. Jia H, Huang L, Zheng Y, Li W. Diagnostic value of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 and insulin-like growth factor binding protein 7 for acute kidney injury : a meta-analysis. *Crit Care* 2017 ; 21:77.
17. Kiryluk K, Bomback A, Cheng Y, Xu K, Camara P, Rabadan R, *et al.* Precision medicine for acute kidney injury (AKI) : redefining AKI by agnostic kidney tissue interrogation and genetics. *Semin Nephrol* 2018;38:40-51.
18. Liu C, Lu X, Mao Z, Kang H, Liu H, Pan L, *et al.* The diagnostic accuracy of urinary [TIMP-2]-[IGFBP7] for acute kidney injury in adults : A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2017;96:e7484.
19. Moledina D, Parikh C. Phenotyping of acute kidney injury : beyond serum creatinine. *Semin Nephrol* 2018 ; 38 :3-11.
20. Piéroni L, Cristol J. Urinary biomarkers of kidney dysfunction. *Ann Biol Clin* 2015;73:151-7.
21. Bastard J, Fellahi S, Lescure F, Capeau J, Ronco P, Plaisier E. Interest of the combined measurement of selected urinary proteins in the diagnosis approach in nephrology. *Ann Biol Clin* 2017 ; 75 :327-33.
22. Ivandic M, Hofmann W, Guder W. The use of knowledge-based Systems to improve médical knowledge about urine analysis. *Clin Chim Acta* 2000;297:251-60.
23. Regeniter A, Freidank H, Dickenmann M, Boesken W, Siede W. Evaluation of proteinuria and GFR to diagnose and classify kidney disease :  
systematic review and proof of concept. *Eur J Intern Med* 2009 ; 20 : 556-61.
24. Regeniter A, Siede W, Scholer A, Huber P, Frishmuth N, Steiger J. Interpreting complex urinary patterns with MDI LABLINK : a statistical evaluation. *Clin Chim Acta* 2000 ; 297 :261-73.
25. Cameron J, Blandford G. The simple assessment of selectivity in heavy proteinuria. *Lancet* 1966 ; 2:242-7.
26. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Beltrame A, Pisano L, *et al.* Urinary excretion of IgG and alpha(1)-microglobulin predicts clinical course better than extent of proteinuria in membranous nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:240-8.
27. Ivandic M, Hofmann W, Guder W. Development and evaluation of a urine protein expert System. *Clin Chem* 1996 ; 42:1214-22.
28. Wheeler D, Becker G. Summary of KDIGO guideline. What do we really know about management of blood pressure in patients with chronic kidney disease? *kidney Int* 2013 ; 83 :377-83.



29. Flahault, Chassé J, Thervet E, Karras A, Pallet N. Relevance of urinary specific protein assay in the diagnosis of kidney diseases. *Ann Biol Clin* 2018;76:259-69.